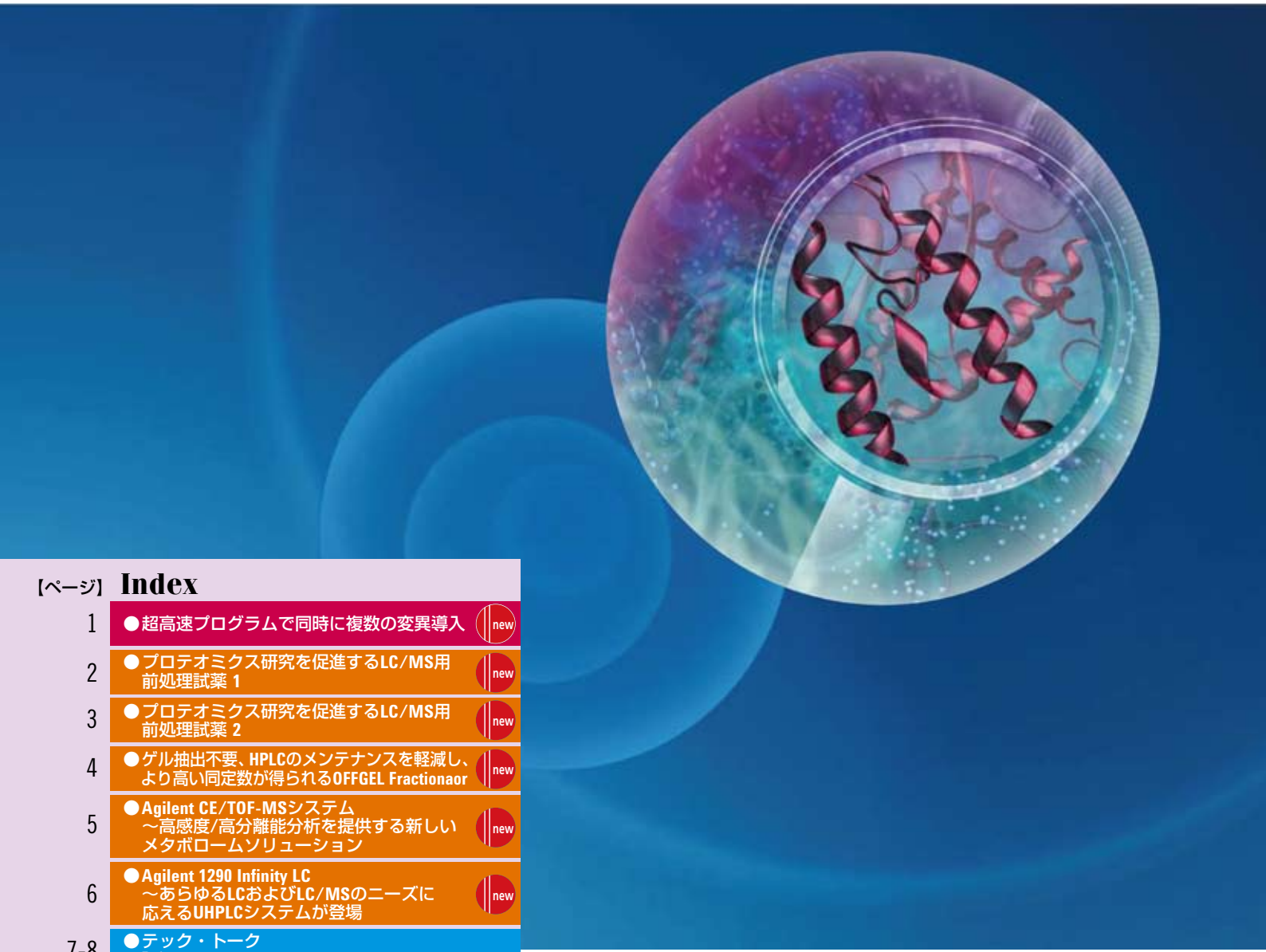
Strategies

プロテオミクス特集

中綴じ付録：テック・トーク「プロテオミクスワークフローソリューションポスター」

VOLUME 5 > NO. 1

日本語版



Index

【ページ】

1 ●超高速プログラムで同時に複数の変異導入 new

2 ●プロテオミクス研究を促進するLC/MS用前処理試薬 1 new

3 ●プロテオミクス研究を促進するLC/MS用前処理試薬 2 new

4 ●ゲル抽出不要、HPLCのメンテナンスを軽減し、より高い同定数が得られるOFFGEL Fractionaor new

5 ●Agilent CE/TOF-MSシステム ～高感度/高分離能分析を提供する新しいメタボロームソリューション new

6 ●Agilent 1290 Infinity LC ～あらゆるLCおよびLC/MSのニーズに応えるUHPLCシステムが登場 new

7-8 ●テック・トーク「プロテオミクスワークフローソリューションポスター」

9 ●血中微量タンパク質研究用前処理ツール new

10 ●タンパク質分取に最適なmRP-C18 高回収率タンパク質カラム ～優れた再現性・回収率・堅牢性～ new

11-12 ●Interview「大阪大学工学部 市橋伯一 先生」

13-14 ●FAQ：HPLC、LC/MS用カラム

15 ●お得情報

アジレント・テクノロジー
分析機器総合カタログ
2009–2010版

Agilent Technologies

new 超高速プログラムで同時に複数の変異導入

問題点 Problem

一度に最大 5 箇所の変異導入ができる QuikChange Multi Site-Directed Mutagenesis Kit では、変異鎖の合成に時間がかかり、目的の変異体を得るまでに 3 日かかってしまいます。

解決法 Solution

新製品 QuikChange Lightning Multi Site-Directed Mutagenesis Kit では、新たに開発した酵素ブレンドと時簡短縮のプロトコールにより、従来のキットよりも増幅反応時間を 50% 以上削減することが可能になりました。さらに *Dpn* I 処理に要する時間が、従来のキットでは 1 時間かかっていたところを 5 分で完了することができます。

新しいブレンド酵素で複数の変異導入

QuikChange Lightning Multi Site-Directed Mutagenesis Kit は、プラスミド DNA へ同時に最大 5 箇所の変異を導入するための、最も速く、また信頼できる方法です。正確性の高い酵素をベースに新たに開発された酵素を使うことで、実験に要する時間の大幅な短縮が可能になり、さらに目的部位への変異導入が正確に行えます。

従来の QuikChange Multi kit と同様に、2 本鎖のプラスミド DNA を鋳型とし、変異を導入する部位のそれぞれ 1 箇所につき 1 種類の目的の変異を組み込んだプライマーを使用します。Fusion タイプの正確性の高い *Pfu* DNA ポリメラーゼをベースに開発された独自のブレンド酵素を使用し、DNA 合成を高い正確性で、かつ短い時間で行うことができます。新たに最適化された *Dpn* I により鋳型消化の時間も大幅に短縮し、約 3 時間で複数の部位への変異導入が完了します。

3 ステップの簡単プロトコール

目的の変異を含む変異導入プライマーを、すべて同じストランドに結合するように設計します。変異導入プライマーから伸張を開始し、独自のブレンド酵素がストランド - ディスプレイスメント活性が起こらない条件化で、非常に高い正確性で伸張を進めます。1 回の反応で、複数の変異とニックをもつ鎖が合成されますが、その後ニックはブレンド酵素により閉じられます。

次に、元の鋳型 DNA を消化するために *Dpn* I 処理を行います。さらに、複数の変異が導入された一本鎖 DNA は Kit に含まれている XL10-Gold Ultracompetent Cells にトランスフォーメーションし、相補鎖を合成します。キットに付属している 3 つのコントロールプライマーを同時に用いたコントロール実験では、3 箇所の変異導入で変異導入効率が 50%、また 1 箇所の変異導入では変異導入効率が最大で 95% に達します。

超高速仕様

QuikChange Lightning Multi Site-Directed Mutagenesis Kit では新しいテクノロジーにより、変異鎖の合成と鋳型プラスミドの *Dpn* I 消化の時間が大幅に短縮されています。時間が短縮されたことで、一日で実験を完了することができ、次の日には変異の入った DNA コンストラクトが得られます。鋳型プラスミドが 5 kb の場合、QuikChange Lightning Multi は、従来の QuikChange Muti キットよりも 4 倍速く変異導入が可能です。

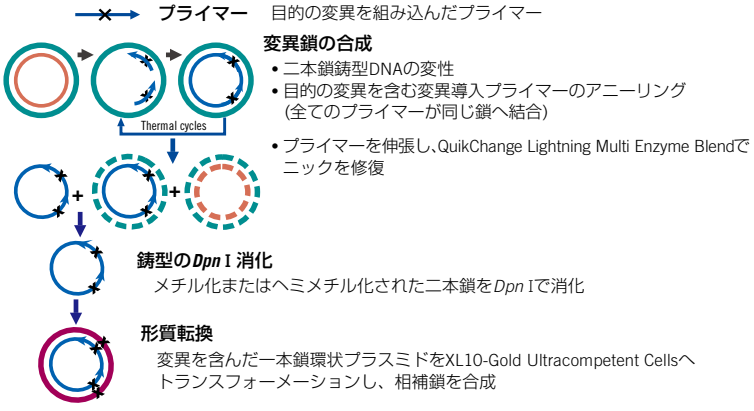


図 1 QuikChange Lightning Multi Site-Directed Mutagenesis Kit のメカニズム

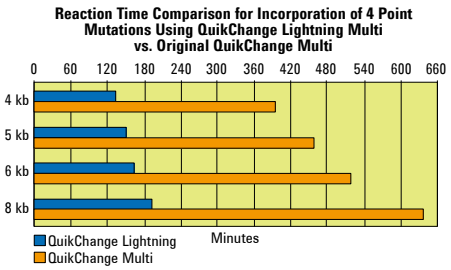

Reaction Time Comparison for Incorporation of 4 Point Mutations Using QuikChange Lightning Multi vs. Original QuikChange Multi
0 60 120 180 240 300 360 420 480 540 600 660
4 kb
5 kb
6 kb
8 kb
QuikChange Lightning
QuikChange Multi
Minutes

図 2 QuikChange Multi Lightning と QuikChange Multi の変異反応時間の比較

注：QuikChange Lightning Multi Site-Directed Mutagenesis Kit（カタログ # 210516、210514）は、営利団体や企業のユーザー様用で、購入の際に「ご使用者確認書」の提出が必要になり、購入金額には制限付の使用ライセンス料が含まれています。制限付使用ライセンスの詳細は添付のマニュアル、またはホームページを参照してください。

QuikChange Lightning Multi Site-Directed Mutagenesis Kit（カタログ # 210515、210513）は、大学や官公庁の研究所のユーザー様用で、購入の際に「ご使用者確認書」の提出が必要です。

QuikChange Lightning Multi Site-Directed Mutagenesis Kit

製品	容量	カタログ #	価格（税別）
new QuikChange Lightning Multi Site-Directed Mutagenesis Kit (Academic 用)	10 反応	210515	¥74,000
	30 反応	210513	¥216,000
new QuikChange Lightning Multi Site-Directed Mutagenesis Kit (Commercial 用)	10 反応	210516	¥172,000
	30 反応	210514	¥420,000

キャンペーン

new プロテオミクス研究を促進する LC/MS 用前処理試薬 1

問題点 Problem

プロテオミクス解析では、サイズ、等電点、疎水性などの様々なタンパク質が多数混ざった状態の、複雑度が高いサンプルを対象として行われますが、ワークフローやメソッドを確立・評価するためのスタンダードには複雑度が高いものがありませんでした。

解決法 Solution

アジレント・テクノロジーの Complex Proteomics Standard は古細菌 *Pyrococcus furiosus* から抽出された、1,500 種類以上のタンパク質を含むスタンダードです。実際のサンプルと同じようにサイズ、等電点、疎水性のバリエーションに富んだタンパク質を含む、複雑度の高い Complex Proteomics Standard は、プロテオミクス解析のワークフロー、メソッドを総合的に評価する際の非常に有用なツールとなります。

実際のサンプルに近い複雑性をもつスタンダード

アジレント・テクノロジーの新製品、Complex Proteomics Standard は *Pyrococcus furiosus* から抽出されたタンパク質で、質量分析を用いたプロテオミクス・ワークフローを評価するために最適なスタンダードです。

プロテオミクスで解析対象となる血清、血漿、脳脊髄液、尿、組織から抽出されたタンパク質などはいずれも多数のタンパク質の混合物であり、複雑性の高いものです。しかし、スタンダードとしては BSA、または何十種類かのタンパク質の混合物が使用され、実際のサンプルのような複雑性は再現することが出来ませんでした。これに対して、本製品は分子量・等電点・疎水性など様々な点で特性の異なるタンパク質を 1,500 種類以上含んでおり、実際のサンプルの複雑性・多様性を模するものとして使用できます。

古細菌 *Pyrococcus furiosus* 由来のタンパク質

Complex Proteomics Standard は古細菌系の超好熱細菌 *Pyrococcus furiosus* から抽出したタンパク質を用いています。前述のように複雑性・多様性をもちながら、ゲノム配列が解読されており、予測される全 ORF は以下のウェブサイトよりダウンロードすることができます。

ftp://ftp.ncbi.nih.gov/genbank/genomes/Bacteria/Pyrococcus_furiosus

また、*Pyrococcus furiosus* はプロテオミクスの解析対象になることの多いヒト、マウスを始めとした生物とは遺伝的な距離が離れているため、サンプル由来のタンパク質とは容易に区別することが可能です。

メソッド、ワークフローの評価に最適

Complex Proteomics Standard は、クロマトグラフィーや電気泳動によるタンパク質の分離、質量分析計によるタンパク質の同定など、プロテオミクス解析のすべての局面で使用することが出来ます。ワークフローを確立する際に、機器やメソッド、ソフトウェア、検索アルゴリズムのテストにベンチマークとして使用することができます。

また、異なるラボ、機器、メソッドの間での標準化や、時間の経過による影響の指標とすることも可能です。共通の安定したスタンダードを用いて測定を行うことで、データ比較がより信頼性の高いものとなります。一定の時間が経過した後に Complex Proteomics Standard を用いて再度測定を行い、初期のベンチマーク値と比較して同定されるタンパク質の数が減少していればワークフローのパフォーマンス低下が疑われます。定期的にワークフローの評価を行うことで、信頼性の高い結果を得ることができます。本製品には、Proteomics Grade Trypsin が同梱されています。

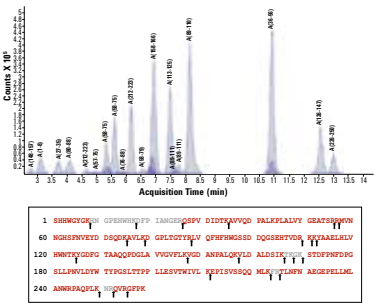
プロテオミクス用の高品質トリプシン

アジレント・テクノロジーの Proteomics Grade Trypsin は、質量分析用にデザインされた、高純度で特異性の高いタンパク質分解酵素で、リジン、アルギニンのカルボキシル基側のペプチド結合を特異的に切断します。ネイティブのトリプシンは自己消化を伴い、その結果生成されたペプチドフラグメントは研究対象のペプチド質量の解析において余分な存在となります。さらに、自己消化によって生成された擬似トリプシンが本来の特異性とは異なる特異性を持つことで、標的タンパク質の消化の特異性が低下してしまう場合があります。

本製品は、前述のトリプシン自己消化によるパフォーマンス低下を解決するために改良が加えられた製品で、トリプシンの特異性を最大限に引き出しています。外部の基質に対する活性を保持したままで自己消化に高い耐性を持たせるために、ブタ膵臓由来のトリプシンにメチル化処理を施しています。その後、キモトリプシンのコンタミネーションを除去するために TPCK 処理し、アフィニティー精製を行った後に凍結乾燥されています。

本製品はすべてのロットについて Agilent 1200 HPLC-Chip、Agilent 6000 シリーズ質量分析システムの組み合わせにより品質管理が行なわれています。各ロットの品質管理では、実際の LC/MS 実験での機能的試験を行うことで、一貫した性能と正確な結果が得られることを確認しています。多様なアプリケーションでより容易に使用できるように、in-solution digestion、in-gel digestion の双方のプロトコルを提供しています。

これらの製品は 2010 年 3 月 31 日まで 50% OFF のキャンペーンを行っています。



ウシ carbonic anhydrase II をアジレントの Proteomics Grade Trypsin で消化し、Agilent 6520 Accurate Mass Q-TOF, HPLC-Chip により解析した際の、全イオンクロマトグラムとペプチドカバレッジマップ

LC/MS 用前処理試薬

	製品	内容と容量	カタログ #	価格（税別）	キャンペーン価格（税別）
new	Complex Proteomics Standard	*Pfu* Protein Extract Proteomics Standard 500µg Proteomics Grade Trypsin 100µg	400510	~~¥98,000~~	**¥49,000**
new	Proteomics Grade Trypsin	Proteomics Grade Trypsin 100µg	240310	~~¥9,800~~	**¥4,900**

キャンペーン

new プロテオミクス研究を促進する LC/MS 用前処理試薬 2

問題点 Problem

ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）サンプルからのタンパク質抽出や、疎水性タンパク質の可溶化には界面活性剤が便利ですが、そのままでは LC/MS 解析ができません。

解決法 Solution

アジレント・テクノロジーの FFPE Protein Extraction Solution は界面活性剤を使わずに FFPE サンプルからタンパク質を抽出するので、LC/MS 解析に理想的です。また、PPS Silent Surfactant は酸性条件下で分解される新型界面活性剤なので、使用後に精製せずに LC/MS 解析が行えます。

FFPE サンプルから LC/MS 解析に適したタンパク質を抽出

FFPE サンプルからのタンパク質抽出は技術的に難しく、界面活性剤の使用によりエピトープの免疫反応性が損なわれたり、続けて行うプロテオミクス解析が困難になるなどの問題点があります。しかし、毎年何百万ものFFPE サンプルが作成されており、これらはバイオマーカーの発見・評価に使用できる可能性を秘めています。アジレント・テクノロジーの新製品 FFPE Protein Extraction Solution は、界面活性剤を使わずにタンパク質を抽出できるので、抽出されたタンパク質サンプルは質量分析にそのまま使用できます（表 1）。また、サンプルの量が少ない際にも再現性良くタンパク質を回収することが可能です（図 1）。

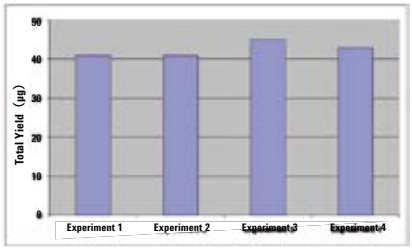


図 1　タンパク質回収の再現性

乳癌組織から 4 回のタンパク質抽出を行った。各乳癌組織は、1 cm^2 で厚さは 10 µm。タンパク質濃度は、ブラッドフォード法で測定。

エピトープの免疫反応性を保持

FFPE Protein Extraction Solution は、界面活性剤を使わずにタンパク質の縺れを解いて効果的に抽出します。そのため、エピトープの免疫反応性を保ったタンパク質を高収量で回収することができ、イムノアッセイによりタンパク質を検出・確認することが可能です（図 2）。

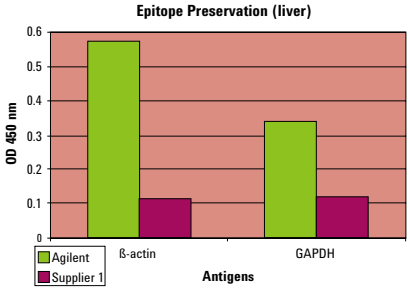


図 2　β-actin、GAPDH タンパク質のエピトープ保存性および抗体での認識性の比較

面積 1 cm^2、厚み 10 µm の肝臓組織 FFPE 切片からアジレントの FFPE Protein Extraction Solution および他社製品でタンパク質を抽出した後、各 1 µg の抽出液で 96-well プレートをコートし、抗原の発現量を ELISA 法で検出。

複雑な組成のタンパク質サンプルの解析性能を改善

PPS Silent Surfactant は疎水性タンパク質を抽出・可溶化し、トリプシンなどによる液相での酵素消化の効率を改善することができます。効率的に細胞膜を壊すことで、質量分析により同定されるタンパク質・ペプチドの総数が増加し、質量分析のイオン化を抑制することなく、より網羅的なプロファイリングが可能になります。

酸により分解、質量分析の前処理に最適

PPS Silent Surfactant 自身は酸性条件下で分解されるので、バッファーの pH を下げるだけで分解され、分解産物は質量分析によるペプチド分析を妨げることはありません。この酸性条件下で自己分解する性質は、質量分析の結果に干渉することなく、存在量の少ないペプチドの同定能を向上させることを可能にします。本製品は、ショットガン・プロテオミクスや複雑な混合物からの少量タンパク質の同定、膜タンパク質の解析に最適です。

これらの製品は 2010 年 3 月 31 日まで 50% OFF のキャンペーンを行っています。

	Agilent FFPE Protein Extraction Solution	他社 FFPE 試薬
Proteins Identified	89	74
Mammalian Proteins	31 (34.8%)	21 (28.4%)
Vertebrate Proteins	33 (37%)	26 (35.1%)
Cancer Related Proteins	Periostin precursor, Antigen K167, Macrophage migration inhibitory factor	Zinc-alpha-2 glycoprotein precursor, Antigen K167

表 1　FFPE 処理した組織サンプルから抽出したタンパク質の LC/MS による解析

乳癌組織から、アジレントの FFPE Protein Extraction Solution、または他社の FFPE 試薬によって、それぞれタンパク質を抽出。アジレントの FFPE Protein Extraction Solution で抽出したサンプルは、直接 LC/MS 解析を行った。他社の FFPE 試薬で抽出したサンプルは、LC/MS 解析の前に、アセトン沈殿を行った。アジレントの FFPE Protein Extraction Solution による抽出物から乳癌に関与するタンパクが 3 つ同定されたのに対して、他社の FFPE 試薬の抽出物からは乳癌に関与するタンパクが 2 つしか同定されなかった。

Protein Sample Prep Kits

	製品	容量	カタログ #	価格（税別）	キャンペーン価格（税別）
new	FFPE Protein Extraction Solution (25 反応)	1.25 ml	400925	~~¥52,000~~	¥26,000
new	FFPE Protein Extraction Solution (100 反応)	4 × 1.25 ml	400926	~~¥186,000~~	¥93,000
new	PPS Silent Surfactant	5 × 1 mg	400500	~~¥36,000~~	¥18,000
new	PPS Silent Surfactant	10 mg	400501	~~¥55,000~~	¥27,500

new ゲル抽出不要、HPLC のメンテナンスを軽減し、より高い同定数が得られる OFFGEL Fractionator

問題点 Problem

プロテオーム解析において二次元電気泳動が多用されていますが、作業に熟練がいる上に、回収率は悪く、しかも分離した試料をゲルから抽出する作業が煩雑です。代わりにイオン交換クロマトグラフィーを使うと、分離が悪い上に HPLC のメンテナンスの手間が掛ってしまいます。

解決法 Solution

OFFGEL Fractionator による分離なら、IPG strip による等電点電気泳動を行った試料をゲル抽出作業を行うことなく、直接液相で回収できるので作業効率も回収率も格段に向上します。また、IPG strip による高い分離により、イオン交換クロマトグラフィーを使用するよりも高い同定数が得られます。しかも電気泳動の進行を電圧と電流の変化でモニターし、一定仕事量に達するまで泳動を継続するので、誰にでも簡単に再現性の高い結果を得ることができます。

IPG strip による等電点電気泳動を“OFFGEL”で

アジレントの OFFGEL Fractionator はその名の通り、等電点電気泳動を Gel の外側 (OFF) で行う大変ユニークな製品です。図 1 に OFFGEL の泳動原理を示してあります。図中に濃い青の横棒で示した IPG strip の上に 12~24well に分割された“Frame”を置き、電気泳動を行います。“Frame”には各 well 間に仕切りがありますが、IPG strip と接する底の部分には仕切りがありません。つまり、各 well は IPG strip のゲル部分を通じてお互いにつながっています。この状態で試料を全ての well に等量ずつ入れた後、泳動を開始すると図 2 に示したように、個々のタンパク質は well 内で拡散平衡を起こしつつ電気泳動され、最終的には各等電点に対応する Well 内に集まります。

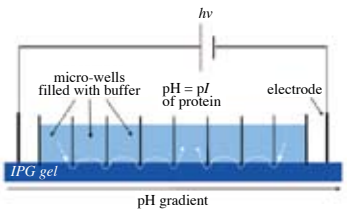


図 1 OFFGEL Fractionator 泳動模式図 a

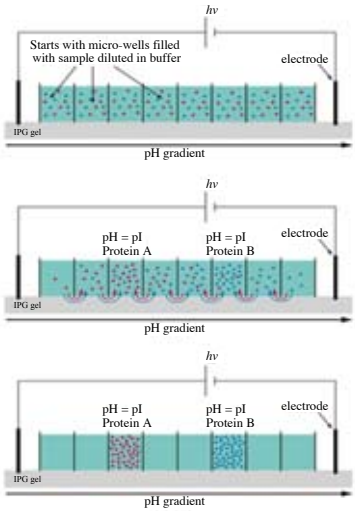


図 2 OFFGEL Fractionator 泳動模式図 b

分離後の試料の回収はこの Well 内の溶液をピペットで回収するだけで完了です。熟練も不要、手間も掛りません。

高い分離再現性

従来の等電点泳動実験では、一定時間が経てば余程電圧が低い等の異常が無い限り Focusing の善し悪しに関わらず無条件で泳動を終了するのが普通でした。しかし、本装置では泳動中の電圧・電流をモニターし、一定の仕事量が完了するまで泳動を継続します。これにより、図 3 に示した様に極めて再現性の高い分離・分画を行う事が可能になりました。

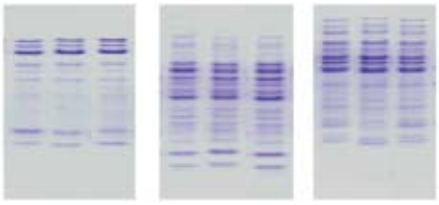


図 3 OFFGEL により分離した Fraction の再現性
3 回の分離により得た画分の分離再現性を SDS-PAGE で確認

同定数が大幅に向上

図 4 に示した様に、本装置を使用した解析の方がイオン交換クロマトグラフィー (この場合 SCX) を使用した場合に比べ、2~3 倍の高い同定数を得る事が出来ます。イオン交換クロマトグラフィーには高塩濃度緩衝液による溶出に伴う、HPLC の腐食対策やカラム管理といった手間が掛りますが、本装置ならこれらを大幅に軽減した上に、より良い結果が得られます。

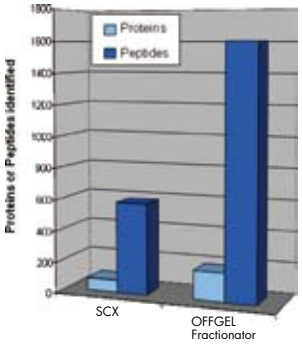


図 4 逆相 LC-MS の前分離として SCX を使用した場合と OFFGEL を使用した場合の同定数の比較

OFFGEL Fractionator

OFFGEL Fractionator システム

製品	内容 / 容量	カタログ #	価格 (税別)
Agilent 3100 OFFGEL Fractionator システム	本体・コントロールモジュール (含ソフトウェア)・泳動用トレイ・2 組専用電極 2 組・取扱説明書・3 年保証	G3100AA	¥2,348,000
Low Resolution Kit, pH3-10	pH 3-10 の範囲を 12well に分画 ,12 回分	5188-6425	¥149,000
High Resolution Kit, pH3-10	pH 3-10 の範囲を 24well に分画 ,12 回分	5188-6424	¥149,000
Low Resolution Kit, pH4-7	pH 4-7 の範囲を 12well に分画 ,12 回分	5188-6427	¥149,000
High Resolution Kit, pH4-7	pH 4-7 の範囲を 24well に分画 ,12 回分	5188-6426	¥149,000
Starter Kit	上記 4 種のキットの消耗品各 3 回分をパッケージしたキット , 全部で 12 回分	5188-6444	¥149,000

new Agilent CE/TOF-MS システム~高感度 / 高分離能分析を提供する新しいメタボロームソリューション

問題点　Problem

代謝物の多くがイオン性の成分なので、従来の LC/MS では保持ができず、分離が難しい、1 回の分析では様々なイオン性代謝物を一斉分析することができない等の欠点がありました。また、イオン性物質の分析に適しているキャピラリ電気泳動を利用した場合も UV-Vis 検出では感度が低いために微量の代謝物の検出ができないといった問題点がありました。

解決法　Solution

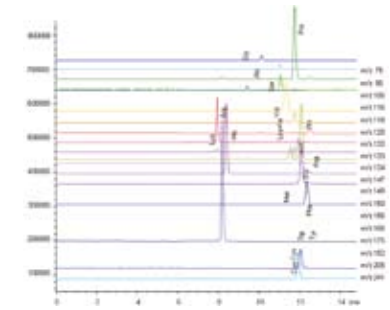
Agilent G7100 キャピラリ電気泳動システムと Agilent G6224AA TOF-MS システムを組み合わせることにより、代謝物の高精度な高感度検出が可能となります。また、CE/MS システムにより、陽イオン性代謝物、陰イオン性代謝物をそれぞれ一斉分析により高速分離することが可能です。Agilent G6224AA TOF で、各成分の高精度な精密質量を測定することにより、高選択的な微量分析が、高速取り込みによる CE 分離のような高速分析にも対応が可能です。さらにアジレントが提供する多変量解析ソフトウェアによりメタボローム解析からバイオマーカーの発見等に役立てることが可能となります。

キャピラリ電気泳動と MS の組み合わせが新しい領域での高精度な分析を実現

キャピラリ電気泳動システム（CE）は陽イオン及び陰イオン性代謝物の迅速・簡便・安価な分析を実現します。この CE に MS を組み合わせた CE/MS システムにより、より選択性の高い高感度検出が可能となり、代謝物分析のような微量、かつ多数の化合物の分析において、新しいソリューションを提供します。

Agilent CE/MS システムによるアミノ酸の高感度一斉分析

アジレントは Single Quad、TOF、Q-TOF、トリプル四重極等の豊富な LC/MS 製品をラインアップしています。CE を含めた CE/MS 装置を 1 社で提供できる唯一のメーカーです。CE/MS システムにより多成分の微量アミノ酸を高感度 / 高選択的に一斉分析することが可能です。（図 1）



Buffer: 1M formic acid
Sample: CysCys 62.5mmol/l, その他 各 250 mmol/l
Capillary: fused silica, L = 100 cm, id = 50 mm
Injection: 150 mar*

図 1　Agilent CE/MS によるアミノ酸一斉分析
MS により高選択で高感度な微量代謝物分析が可能です。

高感度、ハイスループット測定が可能な CE-TOFMS 法と MassHunter による多変量解析

Agilent G6224 TOF-MS は下記の特長を備えています。

1. 高分解能
2. 精密質量測定
3. 広いダイナミックレンジ
4. 高 Scan 感度
5. 高速取り込み（40Hz）
6. 常にフルスペクトル採取

これらの機能により、高感度で高精度なハイスループット測定を可能にし、メタボローム解析に優れた結果をもたらします。また、MassHunter には、単一成分に分離できるピーク抽出が可能な Molecular Feature Extraction（MFE）機能が標準搭載され、多変量解析に必要な質のよいデータ提供が可能です。さらにアジレントが提供する多変量解析ソフトウェアにより、代謝物の変動や多検体における比較を迅速に解析し、バイオマーカー発見等に役立てることができます。（図 2）

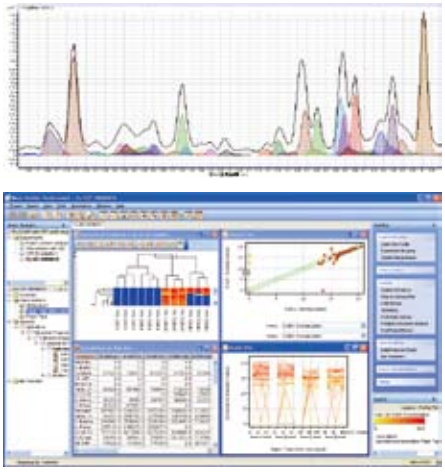


図 2　MassHunter MFE によるピーク抽出と多変量解析ソフトウェアによる解析

Agilent 6224 TOF-MS

Agilent G7100 キャピラリ電気泳動

CE/TOF-MS システム	
製品	価格（税別）
new Agilent G7100 キャピラリ電気泳動 + Agilent 6224TOF CE/TOFMS システム	¥48,000,000 ～
new MassHunter ＋多変量解析ソフトウェア MassHunter Professional	¥3,500,000

new Agilent 1290 Infinity LC ～あらゆる LC および LC/MS のニーズに応える UHPLC システムが登場

問題点 Problem

従来の UHPLC は、使用できるカラムや移動相に制限がある、UHPLC 専用機で HPLC（コンベンショナル）用途に向かない、検出器感度が足りない、UV ベースラインが安定せず微小ピークの積分に時間がかかる、キャリーオーバーが大きいなどの欠点がありました。

解決法 Solution

アジレント・テクノロジーの新製品 Agilent 1290 Infinity LC は、最高のスピード、分離能、感度を実現できるように設計されています。新しい圧力範囲により、あらゆる粒子型、あらゆるカラムサイズ、あらゆる移動相や固定相の使用が可能になっています。革新的な技術で各コンポーネントが、UHPLC と HPLC アプリケーションの両方で、新たなレベルの性能を実現します。

超高分離能ペプチドマッピングを実現する Agilent 1290 Infinity LC

Agilent 1290 Infinity LC システムは 120MPa の世界最高の耐圧を有することで、従来の UHPLC では使用できなかった粒子径 2µm 以下で長さ 100mm 以上の超高分離能カラムを使用することが可能となります。また、圧力が上昇するため使用が難しかったメタノールを分析に利用することも可能となります。図 1 に Agilent 1290 Infinity のパワーレンジを示してあります。

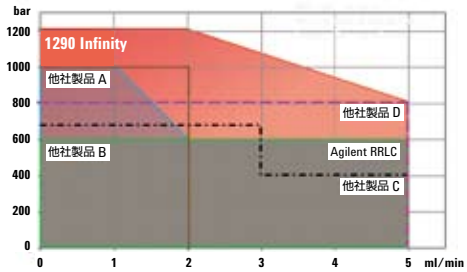


図 1　Agilent 1290 Infinity LC の高いパワーレンジ（圧力流量範囲）により世界最高峰の高分離、超高速、高いピークキャパシティを実現し、メソッド変換にもフレキシブルに対応できます。

Agilent 1290 Infinity の超高耐圧を生かし、粒子径 1.7µm の 150mm カラムと 100mm カラムを接続し、優れたピークキャパシティを有する超高分離を提供します。図 2 に BSA トリプシン消化物のペプチドマッピングを示します。567 もの高いピークキャパシティを実現しました。

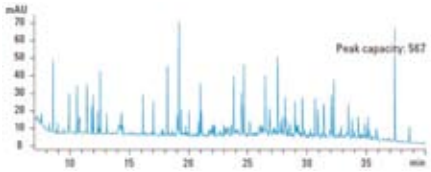


図 2　Agilent 1290 による超高分離能分析

1.7µm 100mm + 150mm カラムにより、ピークキャパシティ 567 を実現。

オミクスに新たな世界を切り開く高精細 Agilent Q-TOF と多変量解析 MassProfiler Professional

Agilent 1290 Infinity LC に Ultra High Definition（超高精細）TOF テクノロジーを備えた Agilent G6540 Q-TOF システムを組み合わせることで、わずか 2 分以内で迅速なペプチドマッピングおよび Q-TOF による高精度な精密質量の情報を得ることが可能です。（図 3）

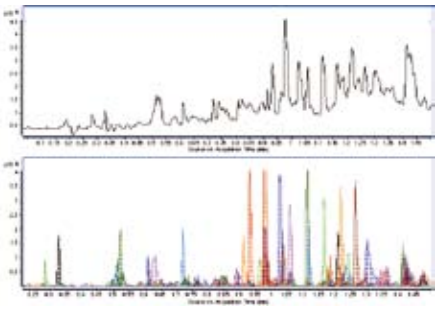


図 3　Agilent 1290 + 6540 Q-TOF：迅速なペプチドマッピング（ Proprietary IgG）

また Agilent MassHunter MassProfiler Professional による多変量解析により、微量代謝物の変動や多検体間の比較を視覚的に行うことができ、バイオマーカー発見等に威力を発揮します。（図 4）

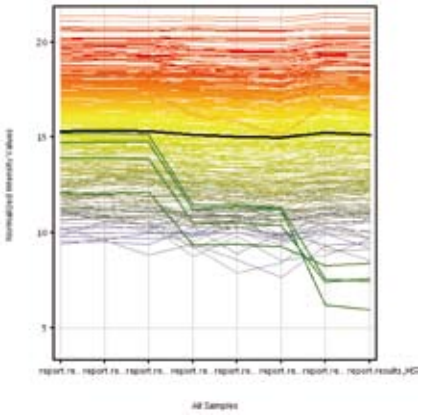


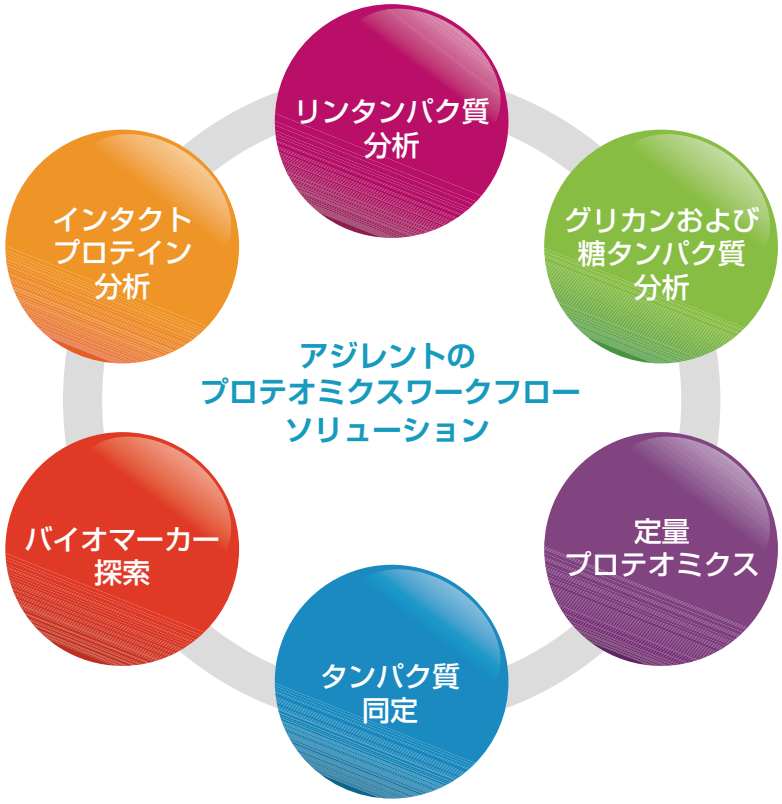
図 4　Q-TOF データによる多変量解析

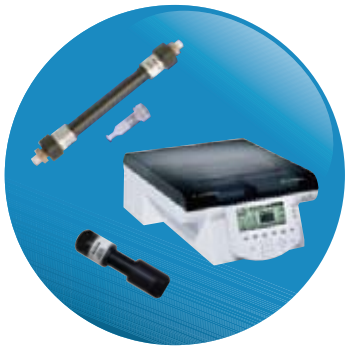
Agilent 1290 Infinity LC

Agilent 1290 Infinity LC	
製品	価格（税別）
Agilent 1290 Infinity LC システム	¥11,000,000 ～
Agilent 6500 シリーズ Q-TOF システム	¥47,500,000 ～

プロテオミ

アジレントは、前処理、





サンプル前処理

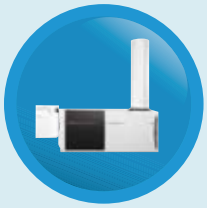
ワークフローの一貫性を向上させるサンプル前処理ツール

- 3100 OFFGEL Fractionator
- MARS カラム / スピンカートリッジ
- mRP タンパク質カラム

タンパク質同定

一般的に分析対象のタンパク質は非常に低濃度で存在するため、高感度な分析メソッドが必要とされます。

Agilent HPLC-Chip/6500シリーズ Accurate Mass Q-TOFは、高性能な分離と高速スキャニング、高精度を組み合わせたシステムです。高速スキャンと精密質量MS/MSにより、偽陽性を排除し、信頼性の高いタンパク質同定を可能にします。



インタクトプロテイン分析

タンパク質の確実な同定には、インタクトプロテインと消化物の両形態について詳細で正確な分析が必要です。

Spectrum Mill ソフトウェアを用いると、タンパク質成分間の詳細な比較が可能となり、タンパク質アイソフォームの変化の特定に役立ちます。MassHunter BioConfirmationソフトウェアにより、インタクトプロテインの分子量とタンパク質消化物データの関連づけが簡単になります。

グリカンと糖タンパク質分析

糖鎖付加は、細胞機能において重要な役割を果たします。

アジレントの新しいグリカンHPLC-Chipは、複雑な混合物からグリカン種を選択的に保持します。グリカンHPLC-Chipと6500シリーズ Accurate Mass Q-TOF を組み合わせることで、感度と同定能力が向上します。

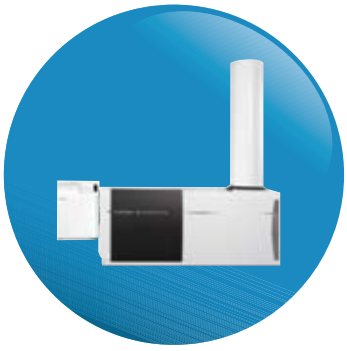
クスワークフローのためのソリューション

分離、分析、解析までのフローをスムーズかつ確実に行うための強力なツールを提供します。

分　離

高い感度と分解能を実現する、卓越した分離技術

- 1200 シリーズ HPLC-Chip/MS
- 1200 シリーズナノフロー LC



分　析

MS と MS/MS 両方での精密質量測定

- Agilent 6200 シリーズ Accurate Mass TOF
- Agilent 6500 シリーズ Accurate Mass Q-TOF
- Agilent 6400 シリーズトリプル四重極 LC/MS

結　果

MS データを生物学情報へ変えるソフトウェア

- MassHunter Workstation
- MassHunter Spectrum Mill
- MassProfiler Professional

リンタンパク質分析

細胞調節機構を明らかにするためには、タンパク質内でのリン酸化部位の正確な測定が欠かせません。

アジレントのHPLC-Chipは、ペプチドを正確に分離し、リン酸化ペプチド分析精度を向上させます。リン酸化ペプチドを選択的に保持するPhospho-chipにより、さらに信頼性の高いキャラクタライゼーションが可能です。

バイオマーカー探索

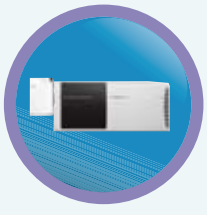
通常、タンパク質バイオマーカーは低濃度で、非常に複雑なマトリクス中に存在します。バイオマーカー探索では、サンプル前処理と検出の両方が課題になります。

アジレントのマルチプルアフィニティ除去システム（MARS）カラムは、最高で14種類の高濃度タンパク質を除去し、バイオマーカーの分析を効率よく行うことができます。3100 OFFGELシステムは、等電点電気泳動によりサンプルの複雑さを軽減します。MassProfiler Professional ソフトウェアは、2群以上の複雑なサンプル群を比較し、可能性のあるバイオマーカーを検出します。

定量プロテオミクス

生物学的メカニズムを解明するには、タンパク質を正確かつ日常的に定量する必要があります。

正確でハイスループットな「絶対的」定量には、Agilent 6400シリーズトリプル四重極LC/MSシステムのフェムトグラムレベルの感度が役立ちます。信頼性が高く、かつハイスループットで、MRMペプチド定量を行い ます。



アジレントのプロテオミクスワークフローソリューションの詳細は、
ウェブサイト**www.agilent.com/chem/jp**をご覧いただくか、フリーダイアル **0120-477-111**にお問い合わせください。

new 血中微量タンパク質研究用前処理ツール

キャンペーン

問題点 Problem

タンパク質中に含まれるバイオマーカーの探索を行う際に、血清中 / 血漿中に大量に存在するタンパク質が邪魔になり、低濃度タンパク質の同定が困難です。

解決法 Solution

アジレントのマルチプルアフィニティ除去システム (Multiple Affinity Removal System: MARS) は、血清中 / 血漿中に大量に存在するタンパク質を除去し、低濃度タンパク質中に含まれるバイオマーカーの同定とキャラクタライゼーションを可能にします。

マルチプルアフィニティ除去システム

マルチプルアフィニティ除去システム (MARS) は、血液などの体液中に高濃度に存在するタンパク質を再現性良く、確実に除去します。MARS には LC 用カラムとスピンカートリッジがあります。LC 用カラムはどんな HPLC システムでも使用可能です。スピンカートリッジは卓上小型遠心機、シリンジ、ピペットを用意するだけで使用することができます。

ヒト用およびマウス用

Hu-HSA、Hu-2、Hu-6、Hu-7、Hu-14 はそれぞれヒト血清中に含まれる 1、2、6、7、14 種類のタンパク質（Hu-HSA は総タンパク質の 50 ～ 55%、Hu-2 は 69%、Hu-6/Hu-7/Hu-14 は 85 ～ 94%）を同時に除去します（図 1）。

Mouse3 はマウス血清中に高濃度で含まれる 3 種類のタンパク質（Albumin/IgG/ Transferrin、総タンパク質の 98 ～ 99%）を同時に除去し、ラット血清にも使用可能です。

スターター試薬キット

スターター試薬キットにはマルチプルアフィニティ除去システムを使用するために必要な消耗品が含まれています。これらのバッファはカラムおよびスピンカートリッジの寿命と再現性を最適化します。カラムとスピンカートリッジは、適切な条件下では約 200 回程度、繰り返して使用することができます。

スターター試薬キットおよび消耗品については別途お問い合わせください。

これらの製品は 2010 年 3 月 31 日まで 25% OFF のキャンペーンを行っています。

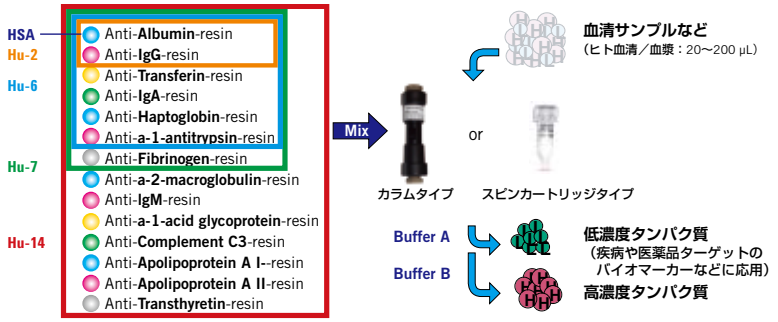


図 1　HSA、Hu-2、Hu-6、Hu-7、Hu-14 が血清 / 血漿中に大量に存在するタンパク質を抗原抗体反応で除去

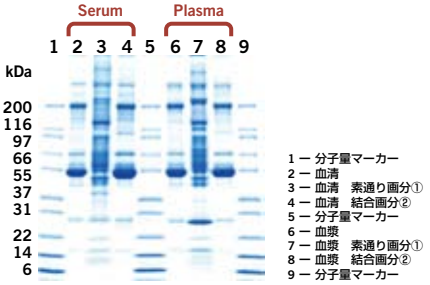


図 2　SDS-PAGE による確認

LC 用 MARS カラム

製品	カラムサイズ / 仕様	カタログ #	価格 (税別)	キャンペーン価格 (税別)
マルチプルアフィニティ除去カラム　ヒト用	4.6 x 50 mm / Hu-14	5188-6557	¥440,000	¥330,000
	4.6 x 100 mm / Hu-14	5188-6558	¥703,000	¥527,250
	10 x 100 mm / Hu-14	5188-6559	¥3,139,000	¥2,354,250
	4.6 x 50 mm / Hu-7	5188-6409	¥388,000	¥291,000
	4.6 x 100 mm / Hu-7	5188-6410	¥651,000	¥488,250
	10 x 100 mm / Hu-7	5188-6411	¥2,926,000	¥2,194,500
	4.6 x 50 mm / Hu-6	5185-5984	¥295,000	¥221,250
	4.6 x 100 mm / Hu-6	5185-5985	¥496,000	¥372,000
new	4.6 x 50 mm / Hu-2	5188-8826	¥181,000	¥135,750
new	4.6 x 50 mm / Hu-HSA	5188-6562	¥168,000	¥126,000
High Capacity マルチプルアフィニティ除去カラム　ヒト用	4.6 x 50 mm / Hu-6HC	5188-5332	¥369,000	¥276,750
	4.6 x 100 mm / Hu-6HC	5188-5333	¥620,000	¥465,000
	10 x 100 mm / Hu-6HC	5188-5336	¥2,786,000	¥2,089,500
マルチプルアフィニアフィニティ除去カラム　マウス用	4.6 x 50 mm / Ms-3	5188-5217	¥295,000	¥221,250
	4.6 x 100 mm / Ms-3	5188-5218	¥496,000	¥372,000
MARS カスタムカラム				お問い合わせ

MARS スピンカートリッジ

製品	カラムサイズ / 仕様	カタログ #	価格 (税別)	キャンペーン価格 (税別)
マルチプルアフィニティ除去スピンカートリッジ　ヒト用	0.45 mL / Hu-14	5188-6560	¥251,000	¥188,250
	0.45 mL / Hu-7	5188-6408	¥194,000	¥145,500
	0.45 mL / Hu-6	5188-5230	¥148,000	¥111,000
new	0.45 mL / Hu-2	5188-8825	¥76,000	¥57,000
new	0.45 mL / Hu-HSA	5188-5334	¥68,000	¥51,000
High Capacity マルチプルアフィニティ除去スピンカートリッジ　ヒト用	0.45 mL / Hu-6HC	5188-5341	¥185,000	¥138,750
マルチプルアフィニティ除去スピンカートリッジ　マウス用	0.45 mL / Ms-3	5188-5289	¥148,000	¥111,000

キャンペーン

タンパク質分取に最適な mRP-C18 高回収率タンパク質カラム～優れた再現性・回収率・堅牢性～

問題点 Problem

従来型の逆相 HPLC カラムでは、複雑なタンパク質サンプルの場合、回収率が悪く、また、高い温度や低い pH 条件下で使用することができません。

解決法 Solution

アジレントの mRP (Macroporous Reverse Phase Column)-C18 高回収率タンパク質カラムは、複雑なタンパク質のサンプルでも、95% 以上の高回収率での分取、脱塩が可能です。また、高い温度や低い pH 条件下での使用が可能です。

タンパク質分取に最適なカラム

mRP (多孔質逆相)-C18 高回収率タンパク質カラムを使用して、複雑なタンパク質サンプル (アジレントマルチプルアフィニティ除去システムの LC 用カラムで処理後の血清または血漿タンパク質など) を選択したフラクションに分けたり、サンプルの脱塩、濃縮を行うことができます。mRP カラムは、従来型の逆相 HPLC カラムに比べ、極めて高い回収率を実現し、負荷量を増やすことができます。

優れた再現性・回収率・堅牢性

アジレント マルチプルアフィニティ除去システムの LC 用カラムを用いて処理を行った血清をサンプルとした場合、mRP-C18 カラムを使用することで 95 ～ 99% 以上のタンパク質サンプルの回収率が得られることが確認されています。また、マトリックスが多いタンパク質の場合でも、クロマトグラフィ分解能を損なわずに、最大で合計 380 µg のタンパク質のロードが可能です。

水および一般的な有機溶媒に対応し、シンプルな移動相とグラジエントや、標準的な HPLC 装置を使用することで、タンパク質の分画や脱塩が容易になり、再現性も高まります。

免疫除去したヒト血清を 50 のフラクションに断片化

mRP-C18 カラム使用後のサンプルを LC/MS/MS で分析したところ、50 のフラクション中 4 つのフラクションにおいて、mRP-C18 カラムでの処理と免疫除去を行なっていない未処理血清分析時の 10 倍にあたるタンパク質（約 400）が同定されました。

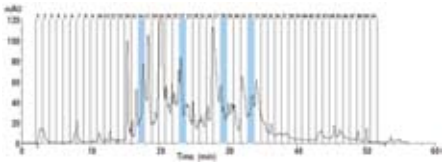


図 1　MARS 処理済の血清を 50 のフラクションに断片化

Sample	Number of Proteins Identified
Human Serum*	40
Immunodepleted Human Serum	181
Fraction 16	71
Fraction 22	97
Fraction 28	99
Fraction 32	181
Combined Fractions (16, 22, 28, 32)	394

* Human Serum data collected off-line by 2D LC/MS/MS.
* Immunodepleted with the Agilent Multiple Affinity Removal System.

タンパク質バイオマーカー探索のワークフロー

図 2 は、アジレント マルチプルアフィニティ除去システム、mRP-C18 カラム、LC および MS 機器、ソフトウェアを用いたタンパク質バイオマーカー探索のワークフローを示しています。免疫除去血清の分析でこのワークフローを用いれば、ここに示すように、mRP-C18 カラムにより、対照血清とコルチゾール欠乏血清、および高リウマトイド因子血清の相違を明確に同定することができます。このシンプルで視覚的な手順により、バイオマーカーの可能性がある複数の血清サンプルの比較において、分析すべきフラクションを素早く選ぶことが可能になります。

これらの製品は 2010 年 3 月 31 日まで 25% OFF のキャンペーンを行っています。

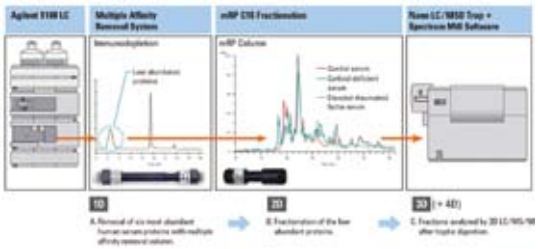


図 2　タンパク質バイオマーカー探索のワークフロー

仕様

使用pH範囲	0.9～8.0（ただし、6.0を越えるpHは非推奨）
カラム材質カラム本体およびエンドフィッティング	PEEK（ポリエーテルエーテルケトン）エンドフィッティングは、標準的なHPLCカラムおよびマルチプルアフィニティ除去カラムと同様に、標準的な1/16インチチューブ10～32スレッドを備えています。
フリット	PEEK封入型チタンフリット（2 µm）
充填剤	タンパク質の強度吸着を低減または排除する多孔C18結合超純度 5 µm粒子シリカ
使用可能な溶媒	水、およびN, N-ジメチルホルムアミドやジメチルスルホキシドなどのすべての一般的な有機溶媒に対応
最大圧力	250 bar（4000 psi）
使用温度	最高使用温度は、pH < 5で80℃、pH 5～8で40℃

mRP-C18 高回収率タンパク質カラム

製品	カラムサイズ	カタログ #	価格 (税別)	キャンペーン価格 (税別)
mRP-C18 高回収率タンパク質カラム	4.6 x 50mm	5188-5231	~~¥100,000~~	**¥75,000**
	0.5 x 100 mm	5188-6510	~~¥100,000~~	**¥75,000**
	2.1 x 75 mm	5188-6511	~~¥100,000~~	**¥75,000**

Lead Vocal

ストラタジーン製品を実際に使用しているユーザー様から生の声を聞く、「Lead Vocal」のコーナーでは、分子生物学の各分野で活躍されている「Vocalist」を独断と偏見でノミネートさせていただき、「Vocalist」の研究内容と合わせて、お使いのストラタジーン製品の「使い勝手を」お伝えしていきます。

第五回目の「Vocalist」は、大阪大学大学院情報科学研究科 バイオ情報工学専攻 共生ネットワークデザイン学講座 四方研究室の特任助教である市橋伯一先生に登場していただきます。市橋先生は、研究室のテーマの一つである自己複製反応を行う人工細胞の構築を中心に、遺伝情報の複製システムを人工的に再構成することにより、その動作原理の解明を目指しております（Kita *et al.*, ChemBioChem 2008 Vol.9, 3023-3028）。また最近では、同研究室のメンバーである松浦特任准教授らは、ストラタジーンの Mx3005P リアルタイム PCR システムを蛍光プレートリーダーとして用いて、GFP 合成を検出することにより、自己複製に必要な RNA 翻訳酵素の発現量の変化を間接的にモニターする実験系を構築され、論文として発表されています（Kazuta *et al.* Mol Cell Proteomics 2008）。今回は、現在四方研究室で取り組まれている研究の中でも、人工自己複製の研究を中心にお話を伺います。

四方研究室の研究テーマ

四方研究室では、階層性を持つネットワークが共存共生する生命システムの持続可能性や環境適応性などを構成的アプローチで探求しており、人工細胞、遺伝子ネットワーク、人工共生系を実験的に構成する中で“生き物らしい柔軟性”を希求し、得られた基礎的知見を持続可能なシステムのデザインに応用することを具体的なテーマとしています。また、これらの研究テーマを支えるツールとして、マイクロ流路チップやマイクロチャンバーチップの中でゆらぎの計測や微生物培養を行う Micro Total Analysis System（μTAS：マイクロタス）や、タンパク質合成に関与する酵素類を単離精製した後に再構成して用いる無細胞翻訳系、セルソーターの改良などの、さまざまな技術開発にも力を入れています。

四方研究室の皆さん　前列左端が市橋先生

Q. 研究室のテーマの一つであり、市橋先生が取り組まれている自己複製反応を行う人工細胞の構築についてお伺いします。

A. 私たちのグループで構築した人工細胞モデルは、RNA 複製酵素をコードした RNA と無細胞翻訳系（PURE system: Keynotes 表 1 を参照）からなる遺伝情報の複製機構（Keynotes 図 1 を参照）、およびそれを内封した脂質二重膜（リポソーム）から構成されます。将来的には、脂質合成機構、細胞分裂機構、エネルギー代謝機構を導入することより、既存の細胞に近いモデルの構築を目指しています。この細胞モデルの特徴は、全て精製された成分からなる完全な再構成系だという点で、これにより曖昧さのない定量的な解析が可能となります。

Keynotes ♪

PURE system：タンパク質合成反応に最低限必要な 69 の因子を単離・精製し、これを試験管内で再構成することでタンパク質合成反応を行えるシステムで、東大上田研で開発された（Shimizu *et al.* Nat Biotechnol 2001）。大腸菌の遺伝情報の無細胞翻訳系では、遺伝情報としての 1 本鎖のセンス鎖 RNA と共に人工細胞に内封される。RNA のほうが DNA より複製機構がシンプルで扱いやすく、なおかつ生命の始原段階で生じたと考えられているペプチド鎖と RNA による自己複製を模擬することができるメリットがある。この自己複製系は、精製された 100 を超えるタンパク質、RNA、低分子成分から構成されており、その各々は全て独立にコントロールが可能なため、コントロールされた条件下での精度の高い反応解析が可能になっている。

IF1	LeuRS	Asp	UTP
IF2	LysRS	Cys	tRNA
IF3	MetRS	Gln	HEPES
EF-G	PheRS	Glu	KGlu
EF-Tu	ProRS	Gly	spermidine
EF-Ts	SerRS	His	$Mg(OAc)_2$
RF1	ThrRS	Ile	CP
RF2	TrpRS	Leu	DTT
RF3	TyrRS	Lys	FD
RRF	ValRS	Met	
AlaRS	MTF	Phe	
ArgRS	MK	Pro	
AsnRS	CK	Ser	
AspRS	NDK	Thr	
CysRS	PPiase	Tyr	
GlnRS	T7 pol	Trp	
GluRS	Ribosome	Val	
GlyRS	Ala	ATP	
HisRS	Arg	GTP	
IleRS	Asn	CTP	

表 1　PURE system におけるタンパク質合成反応に必要な 69 の因子

遺伝情報の複製機構：センス鎖 RNA には、RNA 複製酵素（Qβ レプリケース）の触媒サブユニットがコードされてあり、その末端には RNA 複製酵素の認識配列を有している。このセンス RNA から、無細胞翻訳システムにより、RNA 複製酵素が翻訳される。そして、その翻訳された酵素によって、元の 1 本鎖 RNA が鋳型となり、相補鎖アンチセンス RNA が合成される。このアンチセンス鎖もまた RNA 複製酵素により認識され、もとのセンス RNA が複製される。

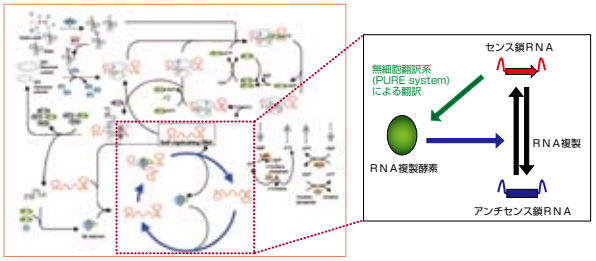


図 1　遺伝情報の複製機構

Q. ストラタジーンの Mx3005P リアルタイム PCR システムを PCR ではなく、プレートリーダーとして使用されているようですが、具体的にはどのように使用されているのでしょうか？

A. 人工自己複製系において目的のタンパク質を効率よく発現させるために、翻訳活性を著しく低下もしくは向上させる因子を特定する必要があります。当研究室の松浦特任准教授と数田博士らは、この因子をスクリーニングするために、無細胞翻訳系に大腸菌由来タンパク質を一つずつ加え、GFP（緑色蛍光タンパク質）をレポータータンパク質として合成量を測定することにより、加えられたタンパク質の翻訳活性に与える影響を調べました（図 2）。Mx3005P は、この GFP の蛍光強度の変化をモニターするのに使用しています。

この実験系を用いて大腸菌遺伝子 4,300 種類の全てのタンパク質についての測定を行った結果、12% の遺伝子が活性に影響を及ぼすことが分かり、タンパク質合成活性を 2 倍程度向上させる因子を複数発見することができました。これらのタンパク質をこれまでの無細胞翻訳系に加えることにより、翻訳活性を 2.4 倍増加させることに成功しています（図 3）。

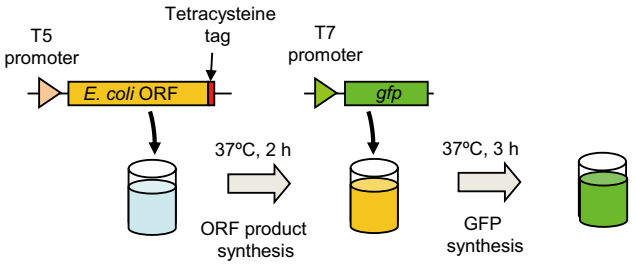


図 2　GFP を用いた翻訳活性因子のスクリーニング実験系

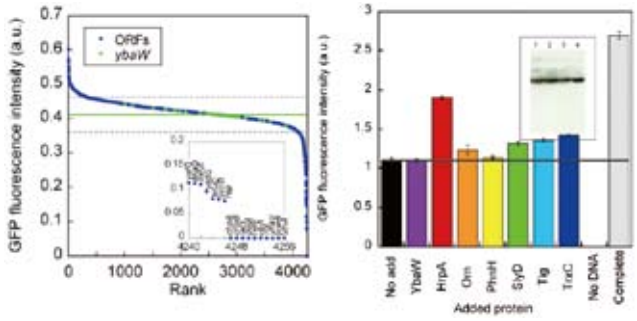


図 3　GFP の蛍光強度の結果と翻訳活性を増加させる因子

Q. ストラタジーンの Mx3005P リアルタイム PCR システム（図 4）を 3 台使用されていますが、Mx3005P の最大のメリットは何でしょうか？

A. ストラタジーンの Mx3005P は、操作性とソフトウェア、特に出力表示形式が非常に優れています。ウェルの直上をスキャンすることによって得られる、非常に高いデータの再現性も継続して購入する理由のひとつです。レファレンスを毎回とっているのですが、使う必要がないくらいアッセイ間の再現性が高いです。また、Mx3005P は駆動系が多いにもかかわらず、堅牢性にも優れていますね。私たちのアッセイでは、1 回のランで 180 回ものスキャンを行い、さらにそのランを 1 日に数回行うのですが、これだけの高い負荷をかけてもデータの再現性が全く変わりません。また、故障の頻度も少ないのではないでしょうか。

図 4　Mx3005P リアルタイム PCR システム（左）とそのスキャニングシステム（右）

Q. 今後の展望についてお聞かせ下さい。

A. 現在構築している人工細胞系をより進化させていきたいと考えています。具体的には、タンパク質の発現だけでなく、脂質合成機構、細胞融合・分裂機構、エネルギー代謝機構などを導入することより、既存の細胞に近いモデルの構築を目指しています。また、これらを用いて、*in vitro* における細胞の進化のプロセスを再現して、実験的に観察していきたいと考えています。私たちが構築している人工細胞系は、全て既知の反応から構成されているため、遺伝配列の変化が適応度に及ぼす影響を定量的に調べることができます。

Q. 最後に研究室の PR をお願いします。

A. 私たちの研究は、平成 21 年 10 月発足の戦略的創造研究推進事業（ERATO 型研究）に選ばれ、現在、博士研究員を募集しています。本プロジェクトでは、細胞の持つ自己複製や自己増殖、進化といった特性を付与した動的微小反応場（人工細胞）を実験的に創造し、その過程で細胞のもつメカニズムについて生物学と物理化学両方の立場から理解すると共に、これらに立脚して細胞の特性を活用した新たな物質反応場設計モデルを構築することを目指しています。具体的には、以下の 3 つの研究テーマを掲げています。

A：微小反応場における生化学反応解析
- タンパク質合成反応、自己複製反応の最適化
- 微小反応場での反応ダイナミクス解析
- 微小反応場表面と内部反応の関係性の解析

B：微小反応場の再帰的融合・分裂
- マイクロ流路を利用した W/O エマルション微小反応場の制御
- オンチップセルソーターの開発
- 微小反応場としてのリポソーム融合、分裂、膜透過などの動的制御
- 進化実験のための微量溶液制御マイクロシステムの構築

C：進化的プログラミング
- RNA 複製酵素の人為進化 (directed evolution) による高活性な酵素の創出
- 鋳型ＲＮＡの進化による複製能力の高い RNA の創出
- 人工細胞モデルに環境応答性を付与することによる、自在に制御可能な人工細胞の創出
- 光応答タンパクを導入することにより光で動く人工細胞の創出

研究テーマや募集の詳細は、研究室のウェブサイトをご覧ください。
http://www-symbio.ist.osaka-u.ac.jp/employment/index.html

FAQ

このコーナーでは、お客様からの技術や製品に関する様々な疑問や質問に回答しながら、最新の技術情報を提供していきます。

アジレントでは、本誌 P9、P10 で紹介した MARS カラムや mRP カラムのほかにも数多くの HPLC、LC/MS 用カラムを製造・販売しています。今回は HPLC 用 AgilentZORBAX カラムに関して寄せられる質問に、弊社のテクニカルサービス部が回答します。

Agilent ZORBAX カラムは分析用、ハイスループット、バイオ用など、さまざまな HPLC アプリケーションの適したカラムを提供しています（図 1）。

Agilent ZORBAX カラムのユニークな点は、酸性、塩基性、中性化合物のすべてに対し、比類のない高い生産性とすぐれたピーク形状を提供することにあります。また、お客様が現在お持ちの HPLC で優れたパフォーマンスを提供出来るだけでなく、Agilent の HPLC、LC/MS と組み合わせることで、装置からカラムを含めたアプリケーションまですべてのソリューションを 1 社で提供出来る点も特徴の 1 つです。

本製品の詳細は以下のウェブサイトを参照して下さい。
http://www.chem-agilent.com/

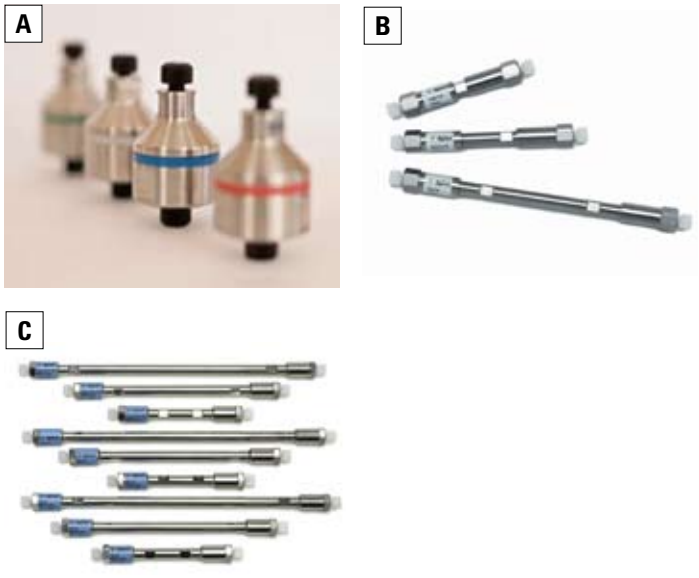


図 1　アジレントの HPLC、LC/MS 用カラムシリーズ
A：バイオモノリス、B：RRHT カラム、ソルベントセーバーカラム、C：RRHD カラム

Q アジレントではどのような HPLC 用のカラムを販売していますか？

A

一般的な HPLC で使用される、逆相（ODS）、順相カラム、またタンパク質や、バイオ分析に適したペプチド、アミノ酸分析、イオン交換、抗体のサイズ排除など、HPLC 及び LCMS でご利用いただける幅広いラインナップの HPLC カラムを販売しています。

Q Agilent ZORBAX HPLC カラムとはどのようなカラムですか？

A

Agilent ZORBAX HPLC カラムは、US の NEWPORT にある Agilent HPLC カラム工場で製造·開発を行っており、充填剤の製造からパッキングまで、すべて自社工場で実施しています。
ラピッドレゾリューションハイスループット（高速高分離）分析を実現する粒径 1.8µm カラムから分取カラムまで、幅広いアプリケーションをカバーする 800 種類以上のカラムを製造しており、HPLC 装置と組み合わせたトータルソリューションを 1 社で提供することを可能にしています。

Q Agilent ZORBAX HPLC カラムの特徴を教えてください。

A

1. ZORBAX ラピッドレゾリューション HT（RRHT）カラム

ZORBAX ラピッドレゾリューション HT（RRHT）カラム は 粒子径 2µm 以下の（平均 1.8µm）多孔性充填剤を使用し、ハイスループット分析や、高速 LC/MS に対応した超高速高分離を実現したカラムです。カラム内径は 2.1mm と 4.6mm の 2 種類が用意されており、最高 600Bar までの耐圧があり、高速高分離分析を可能にします（図 2）。

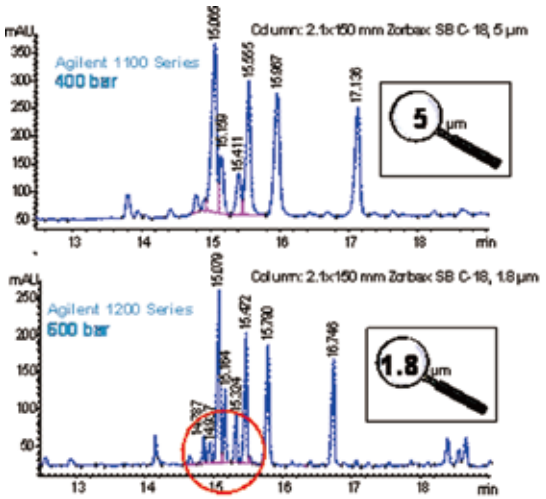


図 2　ZORBAX ラピッドレゾリューション HT（RRHT）カラムによる高速高分離分析　粒子径 1.8µm の RRHT カラムを 600Bar で使用することにより、これまで得られなかった高分離分析が可能になります（赤丸部）。

2. ZORBAX ラピッドレゾリューション High Definition (RRHD) カラム

ZORBAX ラピッドレゾリューション High Definition (RRHD) カラムは、粒子径 1.8µm の ZORBAX カラムのラインナップをさらに拡張した製品です。この新しい RRHD カラムは、充填プロセスの最適化により、Agilent 1290 Infinity LC や、他社高耐圧 HPLC で使用可能な最高 1200 bar の耐圧と安定性を実現しました。RRHD 1.8µm カラムでは、非常に複雑なサンプルを高速または高分離での分析が可能となる、長さ 50、100、150mm のものを用意しています。

3. ソルベントセーバー（Solvent Saver）カラム

HPLC 分析における、溶媒削減の最初のステップは、カラム内径を小さくすることです。

もっともシンプルな提案として、Agilent ZORBAX Solvent Saver 3.0mm 内径カラムによる移動相削減があります。アジレントはさまざまな種類の内径 3.0mm のラインナップを用意しており、お手持ちの LC システムで使用することで、分離能を維持したまま、溶媒使用量を半減することが可能です（図 3）。

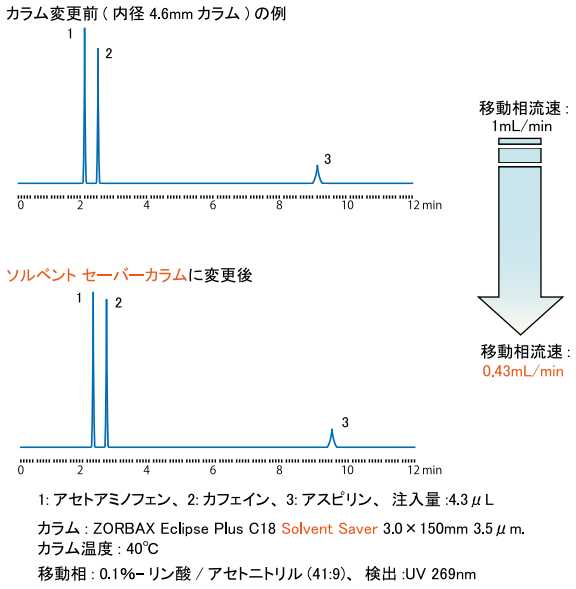


図 3　ソルベントセーバーカラムのパフォーマンス　ソルベントセーバーカラムを使用することで、分離能を維持したまま、溶媒使用量を半減することができます。

Q　Agilent バイオモノリス HPLC カラムとはどのようなカラムですか？

A

Agilent バイオモノリス HPLC カラムは、抗体（IgG、IgM）、プラスミド DNA、ウィルス、ファージなどの大型生体分子の高速・高分離を実現します。カラムの種類は、強カチオン交換、強アニオン交換、弱アニオン交換、プロテイン A の各相があります。バイオモノリス HPLC カラムは、Agilent 1100 および 1200 HPLC システムを含むすべての HPLC および分取 LC システムに対応しています。

Q　Agilent バイオモノリス HPLC カラムの特徴とアプリケーションを教えてください。

A

ポリマーベースのモノリス HPLC カラムにより、流速に左右されない分離が可能になります。拡散、ポア、空隙量がないことから、移動相と固定相の間の高速移動が可能です。モノリスディスクは寸法 5.2mm × 4.95mm、カラム容量 100µL で、拡散による物質移動が排除されています。この超高速分離により、メソッド開発時間を短縮することが可能なため、分析時間とバッファが大幅に削減されます。

バイオモノリス HPLC カラムには 4 種類あり、それぞれ次のような用途に適しています。

- **バイオモノリス QA**：強アニオン交換結合相。使用 pH 範囲 2 ～ 13 で完全に荷電し、負電荷により生体分子と結合します。IgM やアデノウィルス精製のプロセスモニタリング、品質管理などのアプリケーションに最適です。
- **バイオモノリス DEAE**：弱アニオン交換結合相。使用 pH 範囲 3 ～ 9 で負電荷を帯びるため、生体分子の選択性が拡大します。バクテリオファージやプラスミド DNA 精製のプロセスモニタリング、品質管理などのアプリケーションに対応します。
- **バイオモノリス SO3**：強カチオン交換結合相。使用 pH 範囲 2 ～ 13 で完全に荷電し、正電荷により生体分子と結合します。タンパク質や抗体などの大型生体分子の高速・高分離能分析といったアプリケーションに対応します。
- **バイオモノリスプロテイン A**：IgG クラス 3 を除く全 IgG（ヒトおよびマウス）の分析分離用にデザインされたプロテイン A 親和性カラムです。IgG の高速分離および定量が可能です。

Agilent バイオモノリス HPLC カラム

部品番号	結合相	説明	寸法（mm）	価格（税別）
5069-3635	バイオモノリス QA	強アニオン交換	5.2 × 4.95	¥141,000
5069-3636	バイオモノリス DEAE	弱アニオン交換	5.2 × 4.95	¥141,000
5069-3637	バイオモノリス SO3	強カチオン交換	5.2 × 4.95	¥141,000
5069-3639	バイオモノリス Protein A	プロテイン A 親和性	5.2 × 4.95	¥160,000

キャンペーン

Mx3005P QPCR システムキャンペーン（2010 年 3 月 31 日ご注文分まで）【キャンペーンコード：H090521】

あの名機 Mx3005P Real Time QPCR System が驚きの低価格 !!

		価格（税別）	キャンペーン価格（税別）
#401449	Mx3005P Real Time PCR System	~~4,500,000 円~~	3,400,000 円

プロテオミクスソリューション 50%OFF キャンペーン（2010 年 3 月 31 日ご注文分まで）【キャンペーンコード：H09101601】

		容量	価格（税別）	キャンペーン価格（税別）
#400510	Complex Proteomics Standard	500 µg	~~98,000 円~~	49,000 円
#204310	Proteomics Grade Trypsin	100 µg	~~9,800 円~~	4,900 円
#400500	PPS Silent Surfactant	5 × 1 mg	~~36,000 円~~	18,000 円
#400501	PPS Silent Surfactant	10 mg	~~55,000 円~~	27,500 円
#400925	FFPE Protein Extraction Solution	25 反応	~~52,000 円~~	26,000 円
#400926	FFPE Protein Extraction Solution	100 反応	~~186,000 円~~	93,000 円

プロテオミクスカラム 25%OFF キャンペーン（2010 年 3 月 31 日ご注文分まで）【キャンペーンコード：H091030-2】

LC 用 MARS カラム	カラム寸法/仕様	カタログ #	価格（税別）	キャンペーン価格（税別）
マルチプルアフィニティ除去カラム　ヒト用	4.6 × 50 mm/Hu-14	5188-6557	~~440,000 円~~	330,000 円
	4.6 × 100 mm/Hu-14	5188-6558	~~703,000 円~~	527,250 円
	10 × 100 mm/Hu-14	5188-6559	~~3,139,000 円~~	2,354,250 円
	4.6 × 50 mm/Hu-7	5188-6409	~~388,000 円~~	291,000 円
	4.6 × 100 mm/Hu-7	5188-6410	~~651,000 円~~	488,250 円
	10 × 100 mm/Hu-7	5188-6411	~~2,926,000 円~~	2,194,500 円
	4.6 × 50 mm/Hu-6	5185-5984	~~295,000 円~~	221,250 円
	4.6 × 100 mm/Hu-6	5185-5985	~~496,000 円~~	372,000 円
	New! 4.6 × 50 mm/Hu-2	5188-8826	~~181,000 円~~	135,750 円
	New! 4.6 × 50 mm/Hu-HSA	5188-6562	~~168,000 円~~	126,000 円
High Capacity マルチプルアフィニティ除去カラム　ヒト用	4.6 × 50 mm/Hu-6HC	5188-5332	~~369,000 円~~	276,750 円
	4.6 × 100 mm/Hu-6HC	5188-5333	~~620,000 円~~	465,000 円
	10 × 100 mm/Hu-6HC	5188-5336	~~2,786,000 円~~	2,089,500 円
マルチプルアフィニティ除去カラム　マウス用	4.6 × 50 mm/Ms-3	5188-5217	~~295,000 円~~	221,250 円
	4.6 × 100 mm/Ms-3	5188-5218	~~496,000 円~~	372,000 円
MARS スピンカートリッジ				
マルチプルアフィニティ除去スピンカートリッジ　ヒト用	0.45 mL/Hu-14	5188-6560	~~251,000 円~~	188,250 円
	0.45 mL/Hu-7	5188-6408	~~194,000 円~~	145,500 円
	0.45 mL/Hu-6	5188-5230	~~148,000 円~~	111,000 円
	New! 0.45 mL/Hu-2	5188-8825	~~76,000 円~~	57,000 円
	New! 0.45 mL/Hu-HSA	5188-5334	~~68,000 円~~	51,000 円
High Capacity マルチプルアフィニティ除去スピンカートリッジ　ヒト用	0.45 mL/Hu-6HC	5188-5341	~~185,000 円~~	138,750 円
マルチプルアフィニティ除去スピンカートリッジ　マウス用	0.45 mL/Ms-3	5188-5289	~~148,000 円~~	111,000 円
mRP-C18 高回収率タンパク質カラム	**カラム寸法**			
mRP-C18 高回収率タンパク質カラム	4.6 × 50 mm	5188-5231	~~100,000 円~~	75,000 円
	0.5 × 100 mm	5188-6510	~~100,000 円~~	75,000 円
	2.1 × 75 mm	5188-6511	~~100,000 円~~	75,000 円

アジレント・テクノロジー株式会社

〒 192-8510
東京都八王子市高倉町 9-1
カスタマコンタクトセンター
0120-477-111
email_japan@agilent.com
www.agilent.com/chem/jp

販売店